EXFOLIATIVE ZYTOLOGIE:

GRÖSSE UND ANZAHL DER KORNEOZYTEN MENSCHLICHER HAUT IN ABHÄNGIGKEIT VON DER JAHRESZEIT

Silvia Herrmann-Six

Disbui. München
1987

UNIV.
LIBRARY
BIRM.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554605_0003

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco

Exfoliative Zytologie:
Größe und Anzahl der Korneozyten menschlicher Haut in Abhängigkeit von der Jahreszeit

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Silvia Herrmann-Six
aus
München
1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. G. Plewig
Mitberichterstatter:	1) Prof. Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco
	2) Prof. Dr. B. Wiebecke
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.07.87

Exfoliative Zytologie:

Größe und Anzahl der Korneozyten menschlicher Haut in Abhängigkeit von der Jahreszeit

Silvia Herrmann-Six

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco

Exfoliative Zytologie:
Größe und Anzahl der Korneozyten menschlicher Haut in Abhängigkeit von der Jahreszeit

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Silvia Herrmann-Six
aus
München
1986

INHALT

A. Zusammenfassung

B. Einleitung

C. Funktion und Aufbau der Haut

Anatomie und Aufbau der Haut
Epidermis und Keratinisierung
Methoden der Hornzellengewinnung

D. Material und Methoden

Versuchsgruppen
Zellgewinnung
Zellfärbung
Zellzählung
Zellflächenberechnung
Statistische Methoden

E. Ergebnisse

Zellfläche
Körperregionen
Altersgruppen
Geschlecht
Jahreszeitlicher Verlauf
Änderung der Zellzahl im Verlauf eines Jahres
Varianzanalyse
Variabilität der Standardabweichung
Beziehung zwischen Zellzahl und Zellgröße

F. Diskussion

G. Literaturverzeichnis

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 40 Probanden die Korneozyten (Hornzellen) von zwei verschiedenen Regionen, paraumbilikal und Außenseite des rechten Unterschenkels, untersucht. Die Versuchsgruppen waren in zwei Altersgruppen (♂ 77±7 und 36±6 Jahre; ♀ 85±6 und 35±6 Jahre) aufgeteilt mit je zehn Frauen und zehn Männern. Die Zellgewinnung erfolgte mit der Detergenzabwaschmethode (11,37). Die Hornzellen wurden ein Jahr lang einmal monatlich gewonnen, in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer ausgezählt (Zellzahl/cm^2 Hautoberfläche) (16) und von je 50 Korneozyten planimetrisch die Oberfläche in μm^2 ermittelt.

Es zeigten sich bei dieser Untersuchung bezüglich der Zellfläche Unterschiede in Abhängigkeit von der Region (30), von der Jahreszeit sowie vom Alter der Probanden (1,24); eine Abhängigkeit vom Geschlecht konnte nicht nachgewiesen werden. Die jahreszeitlich bedingten Schwankungen der Zellfläche betrafen vor allem die älteren Versuchspersonen. Die älteren Frauen hatten hohe Flächenwerte im Winter und kleinere Werte im Sommer.

Ältere Frauen	Januar 1981	Juli 1981
Bein ($p < 0,01$)	1315 ± 166 μm^2	1051 ± 121 μm^2

Bei den älteren Männern hingegen war die saisonale Schwankung nicht deutlich ausgeprägt. Die Zellzahlen stiegen bei älteren Frauen und Männern im Sommer an, und erreichten dabei teilweise mehr als das Doppelte der Werte der Wintermonate.

Ältere Männer	Januar 1981	Juli 1981
Nabel ($p < 0,01$)	64100 Zellen/cm^2	193400 Zellen/cm^2

Einleitung

Hornzellen (Korneozyten) von den obersten Lagen des Stratum corneum wurden zwei verschiedenen Regionen, paraumbilikal und von der Außenfläche des rechten Unterschenkels entnommen. Diese unterschiedlichen Abnahmeorte sollten regionale Unterschiede (30) aufzeigen. Der Einfluß des Alters (1,24) und des Geschlechts der Probanden konnte mit Hilfe der Aufteilung der Versuchsgruppen in jüngere und ältere weibliche und männliche Probanden (♂ 36±6 und 77±7 Jahre; ♀ 35±6 Jahre und 85±6) nachgewiesen werden. Um saisonale Auswirkungen auf Fläche und Zahl der Hornzellen beobachten zu können, wurden die Zellen ein Jahr lang einmal monatlich untersucht.

Funktion und Aufbau der Haut

Anatomie und Aufbau der Haut

Die Schichten der Epidermis

Die Epidermis läßt sich in folgende Schichten unterteilen:

bindegewebige Grenzschicht, Basalmembran
Stratum basale
Stratum spinosum
Stratum granulosum
Intermediärzone, Stratum lucidum
Stratum corneum

Stratum basale, Basalmembran, bindegewebige Grenzschicht

Das Stratum basale besteht vorwiegend aus Basalzellen (Keratinozyten); es weist aber auch Melanozyten auf. Die Basalzellschicht sitzt zum Korium hin der Basalmembran auf.

Stratum spinosum

Stratum basale und Stratum spinosum bilden zusammen das Stratum germinativum, dessen Matrix die Basalzellen des Stratum basale sind.
Das Stratum spinosum wird vor allem von polygonalen Keratinozyten gebildet, die sich mosaikartig aneinander reihen. Die Zahl der übereinanderliegenden Zellschichten ist von der Dicke der Haut abhängig: je dicker die Haut, desto mehr Schichten von Keratinozyten liegen vor. Charakteristisch für diese Keratinozyten sind leistenförmig die Zelloberfläche überziehende Desmosomen. Von diesen Desmosomen führen Tonofibrillen in das Zellinnere. Tonofibrillen, die aus Tonofilamenten bestehen, werden im Laufe der Transformation wahrscheinlich zu Präkeratin und tragen schließlich zur Verhornung der Korneozyten bei.
Keratinosomen, auch "Odland bodies" (nach dem amerikanischen Erstbeschreiber Odland) genannt, die ebenso wie Desmosomen nur im Elektronenmikroskop sichtbar sind, spielen vermutlich ebenfalls eine Rolle beim Keratinisierungsvorgang.

Stratum granulosum

An das Stratum spinosum schließt sich das nur zwei bis drei Zellschichten umfassende Stratum granulosum an. In den Zellen dieser Schicht zeigen sich besonders deutlich Keratohyalingranula, basophile Körner, die, auch lichtmikroskopisch sichtbar, die Differenzierung der Zellen zur Keratinbildung deutlich machen.

Intermediärzone, Stratum lucidum

Das Stratum intermedium ist ein funktioneller Begriff, der nach Brody (einem schwedischen Dermatologen) eine Bezeichnung für die granulahaltigen Zellen darstellt. Daran schließen sich sogenannte T- oder transitorische Zellen an, die wiederum vom Stratum lucidum abgelöst werden. Im Stratum lucidum lassen sich mit Hilfe der Osmiumsäure-Färbemethode zwei Schichten erkennen, die sich, Palmae und Plantae ausgenommen, nur schwach anfärben. Die Unterscheidung zu dem sich anschließenden Stratum corneum ist anhand der größeren Fibrillendichte und der Undurchsichtigkeit des Stratum corneum compactum möglich.

Stratum corneum

Das Stratum corneum läßt sich in zwei Schichten unterteilen: das vorwiegend fibrilläre Strukturen aufweisende, dichtere und tiefer gelegende Stratum corneum compactum, und das darüberliegende lockere Stratum corneum disjunctum. Die kernlosen Hornzellen enthalten je nach Hautfarbe und Rasse bis zu 500 Melaningranula und weisen eine Zellgröße (größte Längenausdehnung) von 30-45 µm auf (35). Im Vergleich dazu mißt eine Basalzelle etwa 6 µm, eine Stachelzelle 10-15 µm und eine Zelle des Stratum granulosum 20 µm (35). Man kann also aus diesen Zahlen schließen, daß die Zellgröße im Verlauf der Epidermopoese immer stärker zunimmt.
Die Zahl der mit der Detergenzabwaschmethode zu gewinnenden Korneozyten pro cm^2 Hautoberfläche sowie die Fläche der Korneozyten ist, abhängig von der Lokalisation der Entnahmestelle, sehr verschieden.

Körperregion	Mittelwert
Stirn	82.000
Achselhöhle	118.000
Arm	187.000
Handinnenfläche	103.000
Bauchhaut	218.000
Oberschenkel	133.000
Ferse	319.000

Tabelle 1. Zahl der Korneozyten/cm^2 in verschiedenen Körperregionen (11)

Keratinisierung

Unter dem Begriff der Keratinisierung versteht man die Transformation der Epidermiszellen zu Hornmaterial.
Ihren Ausgang nimmt diese Entwicklung von den Basalzellen. Nach der Mitose verbleibt eine der beiden Zellen zur weiteren Teilung in der Basalschicht, wohingegen die andere Zelle in den Prozeß der Keratinisation eintritt. Die Zelle durchwandert daraufhin die Schichten der Epidermis und wird schließlich als Hornzelle von der Körperoberfläche abgestoßen. Pro Tag werden etwa ein bis eineinhalb Lagen von Korneozyten der Haut abgestoßen.
Ein besonderer struktureller Aufbau wurde 1972 von Christophers (4) und 1973 von Mackenzie (23) beschrieben. Christophers berichtete, daß die Epidermiszellen der Rumpfhaut in kolumnärer Struktur angeordnet sind, und daß dieses Phänomen an anderen Körperregionen fehlt. Als Erklärung wird die Beobachtung herangezogen, daß nur eine bestimmte proliferative Aktivität den Aufbau dieser Säulenstruktur zuläßt. Überschreitet die Proliferationsrate ein bestimmtes Ausmaß, ist dieser differenzierte Aufbau nicht mehr möglich und die Hornzellen liegen wahllos angeordnet neben- und übereinander.
Das Endprodukt der Keratinisierung, die Hornzelle (Korneozyt) setzt sich vor allem aus Keratin, daneben aber auch aus abgebauten Strukturen von Zellkernen und Zellorganellen zusammen.
Das Keratin ist ein fibrilläres, aus Tonofibrillen sich entwickelndes Skleroprotein welches in Abhängigkeit vom pH Wert, bei dem es löslich ist, in ein Skleroprotein A und B unterteilt wird (29). Skleroprotein A besteht bei pH 7,1 aus löslichen und unlöslichen Anteilen, wobei letztere das Skleroprotein B bilden, das erst bei pH 10-13 in gelöster Form vorliegt. Als unlöslicher Rückstand verbleiben nur Zellmembranen. Die feste Struktur des Keratins resultiert hauptsächlich aus seinen chemischen Bindungen, den Wasserstoffbrücken- und Disulfidbindungen. Eine weitere wichtige Voraussetzung für die Entstehung einer intakten Epidermis sind die Keratohyalinkörperchen des Stratum granulosum.

Methoden der Hornzellengewinnung

Jan Wolf (38), Anatom aus Prag, benützte 1939 als erster den Adhäsivzelluloidstreifen zur Gewinnung von Hornzellen. Es gelang ihm, Zellen in einschichtigen Verbänden zu gewinnen, ohne sie dabei zu zerstören. Diese Methode wurde 1967 von Goldschmidt und Kligman (12) zur "Adhesive slide technique" weiterentwickelt. 1964 wandten Christophers und Kligman (7) eine Methode an, bei der durch Erzeugung von Blasen Stratum corneum gewonnen wurde. Durch die mit 0,4N Natriumhydroxid erzeugte Blase und die nachfolgende Färbung mit 0,1%iger Methylenblaulösung wurde es möglich, den strukturellen Aufbau der Hornzellagen darzustellen und die Zahl der Zellagen zu zählen. Diese Technik benützte 1968 auch Blair (3) bei ihrer Bestimmung der Hornzelldicke. Sie dividierte dabei die mittlere Dicke des Stratum corneum durch den Mittelwert der Zahl der Zellagen. 1971 modifizierten Menton und Eisen (28) die Methode von Christophers und Kligman (7) und betrachteten die Präparate von Stanzbiopsien im Phasenkontrast-, Interferenz- und Lichtmikroskop. Für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung wurde tesa -Film verwendet. Die Markierung der DNS- synthetisierenden Zellkerne mit 3H-Thymidin wurde 1965 von Epstein und Maibach (9) durchgeführt. Ihr Ziel war es, die Zellerneuerungszeit zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurden 3H-Thymidin intradermal injiziert und 40 Minuten bis 50 Tage nach Markierung Hautbiopsien entnommen. 1967 bestimmten Baker und Kligman (2) die Erneuerungsrate (Turnover) des menschlichen Stratum corneum, indem sie Tetrachlorsalizylanilide (TCSA), einen fluoreszierenden Farbstoff, auf die Haut aufbrachten und die Zeit bestimmten, bis dieser Farbstoff mit einer Wood-Lichtlampe nicht mehr nachweisbar war. Jansen, Hojyo-Tomoko und Kligman (21) benützten 1974 Dansylchlorid, einen Fluoreszenzstoff, zur Bestimmung der Zellerneuerungsrate. 1980 veröffentlichten Roberts und Marks (32) eine Untersuchung, in der sie die Desquamationsrate bei Anwendung vier verschiedener Techniken (Detergenzabwaschmethode, Dansylchloridfluoreszenztechnik, Silbernitrattechnik und passive Desquamation) verglichen.

Die geringe Irritation von Zellen durch anionische Detergenzien erkannten erstmals 1965 Williamson und Kligman (37) bei ihrer Untersuchung der kutanen Mikroflora. Diese Erkenntnisse wurden von McGinley, Marples und Plewig (11) 1969 auf Korneozyten übertragen und zur Detergenzabwaschmethode weiterentwickelt. Hierbei wurden Hornzellen mit Triton-X-100 von der Hautoberfläche abgewaschen und mit einer Mischung aus Rhodamin-B- und Methylenblaulösung im Verhältnis 1:3 gefärbt (18). Die Detergenzabwaschmethode wurde 1970 von Plewig und Marples (30, 31) noch etwas vereinfacht. 1970 entwickelte Christophers (6) die FITC Technik, eine Methode bei der mit Hilfe von Fluoreszinisothiocyanat und Essigsäure im Fluoreszenzmikroskop die Zellgrenzen des Stratum corneum fluoreszenzoptisch dargestellt wurden. 1971 und 1974 wurde diese Technik erneut bei Arbeiten von Christophers (5) und Christophers, Wolff und Laurence (8) eingesetzt. Holbrook und Odland (19) stellten 1974 durch Anfärbung osmiophiler Strukturen mit Osmiumtetroxid elektronenmikroskopisch das ganze Stratum corneum dar. Diese Methode eignete sich insbesondere für das Transmissionselektronenmikroskop. Germann, Barran und Plewig (10) schließlich isolierten mit tesa -Film Abrissen Korneozyten von der Nagelplatte. Diese "Nagelplatten-Methode" wurde 1980 entwickelt, da sich die Detergenzabwaschmethode hierfür nicht eignete.

Material und Methoden

Versuchsgruppen

Um den Einfluß von Entnahmestelle, Geschlecht und Alter der Probanden auf die Fläche der Korneozyten in μm^2 und ihre Anzahl/cm^2 Hautoberfläche untersuchen zu können, wurde folgende Einteilung in Versuchsgruppen vorgenommen.
Die Probanden wurden in zwei Gruppen geteilt; eine Gruppe mit 20 jüngeren Personen, jeweils 10 Männer und Frauen, und die andere Gruppe mit 20 älteren, wiederum zur Hälfte Männer und Frauen.

Alter	Geschlecht	Anzahl
35 ± 6 Jahre	weiblich	10
36 ± 6 Jahre	männlich	10
85 ± 6 Jahre	weiblich	10
77 ± 7 Jahre	männlich	10

Tabelle 2. Anzahl der Versuchspersonen. N=40.

Die Zellabnahme erfolgte an zwei verschiedenen Lokalisationen: paraumbilikal bis zu fünf Zentimeter vom Nabel entfernt und an der lateralen Seite des rechten Unterschenkels. Die Untersuchten wiesen an diesen Hautarealen keine Hautveränderungen auf.
Die Abnahme der Zellen erfolgte einmal monatlich über die Zeitdauer eines Jahres.
Die jüngeren Versuchspersonen waren Mitarbeiter der Dermatologische Universitätsklinik München, die Gruppe der älteren Personen bestand aus Bewohnern eines Münchener Altersheims.
Alle vierzig untersuchten Personen änderten während der Zeitdauer des Versuchs ihre Hautpflegegewohnheiten nicht.

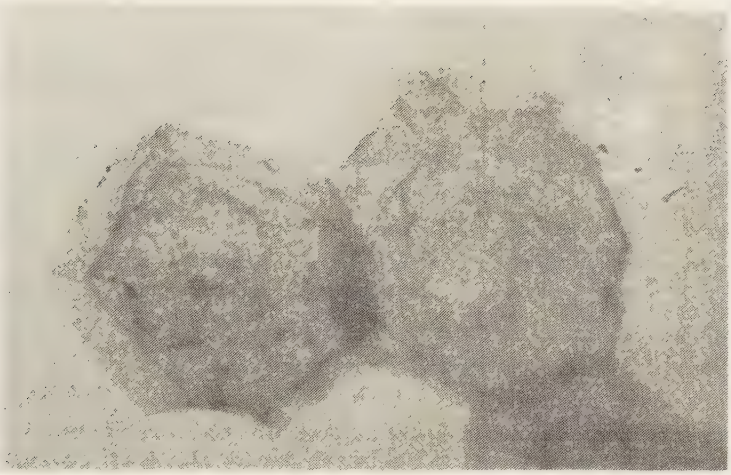
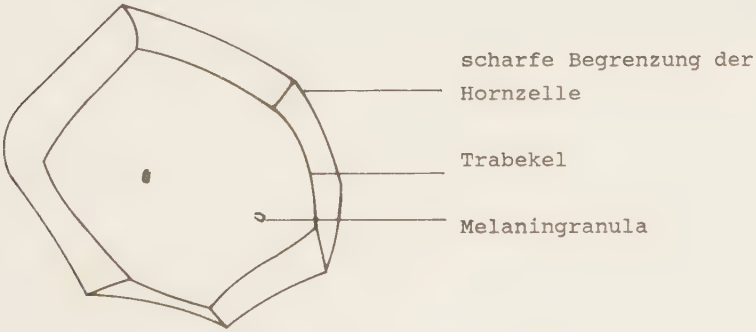


Abb. 1. Drei Korneozyten vom Oberarm mit regelmäßiger Trabekel struktur. x 880



<u>Trabekel</u> Impression an der Zelloberfläche durch über- und untereinanderliegende Hornzellen

<u>Fläche</u> 1150 μm^2

<u>Durchmesser</u> 45 μm

Zellgewinnung

Zur Zellgewinnung wurde die Detergenzabwaschmethode nach McGinley, Marples und Plewig (11) angewandt. Diese Methode ermöglichte es einzelne Korneozyten unversehrt zu gewinnen.
Zur Zellabnahme wurde den Versuchspersonnen ein Glaszylinder mit einer Fläche von 3,8 cm^2 auf die Haut gesètzt und mit einer Eppendorf Pipette 0,5ml einer 0,1%igen Triton-X-100 Lösung, die mit 0,05M Phosphatpuffer auf einen pH Wert von 7,9 eingestellt war, in den Zylinder pipettiert. Anschließend wurde unter leichtem Druck 40 Sekunden lang das vom Zylinder umfaßte Areal mit einem an seiner Basis 8 x 1mm messenden stumpfen Teflonstab gerieben. Die Waschflüssigkeit mit den darin enthaltenen Zellen wurde nach dieser Zeit wieder abpipettiert.
Wichtig ist bei dieser Technik, daß mit dem Teflonstab die ganze Fläche innerhalb des Ringes bearbeitet, und immer der gleiche sanfte Druck auf die Hautoberfläche ausgeübt wird, um reproduzierbare Zellzahlen zu bekommen.

Zellfärbung

Die Zellfärbung erfolgte mit einer aus Rhodamin B und Methylenblau im Mischungsverhältnis 1:3 bestehenden Farblösung (18). Diese ermöglichte es, Zellstrukturen und Zellgrenzen kontrastreich und klar darzustellen. Rhodamin-B-Trockensubstanz wurde in 40%igem Äthylalkohol im Verhältnis 1:10 gelöst. Diese Lösung wurde mit drei Teilen Methylenblau versetzt, und die verbleibenden ungelösten Farbpartikel durch Filtration eliminiert (Selecta Faltenpapier Nr. 595 1/2, Ø 15 cm). Von dieser Farblösung pipettiert man jeweils 20 µl in 0,2ml Waschlösung, schüttelt kräftig und gibt davon einige Tropfen auf einen Objektträger. Die mit einem Deckglas versehenen Präparate können nach 24stündiger Lufttrocknung mikroskopisch ausgewertet werden.

Zellzählung

Nach der Zellfärbung wurde die Zellzahl in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer (16) ermittelt. Diese Zählkammer, die vor allem zur Bestimmung der Erythrozytenzahl verwendet wird, unterscheidet sich von anderen Kammern insbesondere durch ihren größeren Rauminhalt von 3,2 µl.
Bei der Korneozytenauszählung wurden Zellen in drei repräsentativen Großfeldern ausgewertet und die engültige Zellzahl nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{\frac{X}{3} \times 16 \times V_W \times F_V}{V_K \times F_R}$$

X = Zahl der Zellen
V_W = Volumen der Waschlösung
F_V = Farbverdünnungsfaktor
V_K = Volumen der Kammer
F_R = Fläche des Ringes
3 = Zahl der ausgezählten Quadrate
16 = Gesamtzahl der Quadrate

Zellflächenberechnung

Die Zellflächenberechnung wurde an einem Mikroskop mit Projektionstubus, das sowohl mit einem Zeichentablett als auch mit einem Videoplan^{R}-Gerät (Kontron) verbunden war, vorgenommen. Vor der Meßung wurde der Tubusfaktor bestimmt, indem auf einem graduierten Objektträger (Mikrometer, Leitz 2mm in 200 Teile geteilt) eine bestimmte Strecke ausgemessen wurde. Dieser Faktor wurde in das Videoplan^{R}-Gerät eingegeben. Um den Meßfehler möglichst klein zu halten, wählte man die maximale Vergrößerung (x 1.800) bei Verwendung der Ölimmersionslinse.
Die im Mikroskop betrachteten Korneozyten wurden über den Zeichentubus auf das Meßtablett projiziert, wo ihre Randkonturen mit einem Leuchtdiodenstift nachgezeichnet werden. Der Leuchtdiodenstift ist mit dem Videoplan^{R}-Gerät verbunden, so daß die Umfahrung der Zellen eine gleichzeitige Speicherung der Daten ermöglicht. Pro Präparat wurden jeweils 50 Hornzellen vermessen, deren Fläche und Standardabweichung vom Videoplan^{R}-Gerät ermittelt wurde. Die Meßgenauigkeit dieser Methode liegt bei etwa zwei Prozent (18).

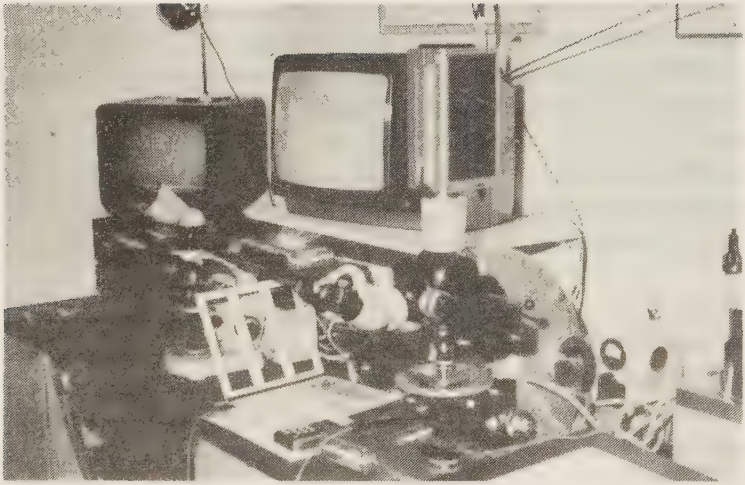


Abb. 2. Versuchsanordnung zur Zellflächenberechnung. Links die Mikroskope mit rechtsseitig angebrachtem Projektionstubus; ganz vorne rechts das Zeichentablett. Links hinten das Videoplan^{R}-Gerät (Diskettenstation), und Bildschirm-Monitore.

Statische Methoden

Etwa 48.000 Hornzellen wurden planimetrisch ausgemessen und 960 Präparate in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer (16) ausgezählt. Aus diesen Daten wurde eine Varianzanalyse für Zellfläche und Zellzahlen erstellt.

Ergebnisse

Veränderungen der Zellfläche

Körperregionen

In den vier Versuchsgruppen wurde jeweils die Paraumbilikalregion mit der lateralen Seite des rechten Unterschenkels verglichen. Bei den jungen Männern und Frauen waren die Hornzellen am Bein kleiner als am Nabel. Dieser Effekt ist der Abbildung 3 und folgenden Zahlen zu entnehmen.

April 1981	junge Frauen	junge Männer
	μm^2	μm^2
Bein	1049 ± 86	1023 ± 114
Nabel	1116 ± 82	1110 ± 94

Tabelle 3. Vergleich der Zellflächen in μm^2 an verschiedenen Körperregionen. ($p < 0,05$)

Die älteren Frauen wiesen fast keine regionalen Differenzen auf (Juli 1981 Bein 1051 ± 121 μm^2; Nabel 1054 ± 111 μm^2), wohingegen die Hornzellen bei älteren Männern am Bein größer waren als paraumbilikal (Juli 1981 Bein 1364 ± 169 μm^2, Nabel 1214 ± 115 μm^2). (Wechselwirkung zwischen Geschlecht und Alter $p < 0,01$)

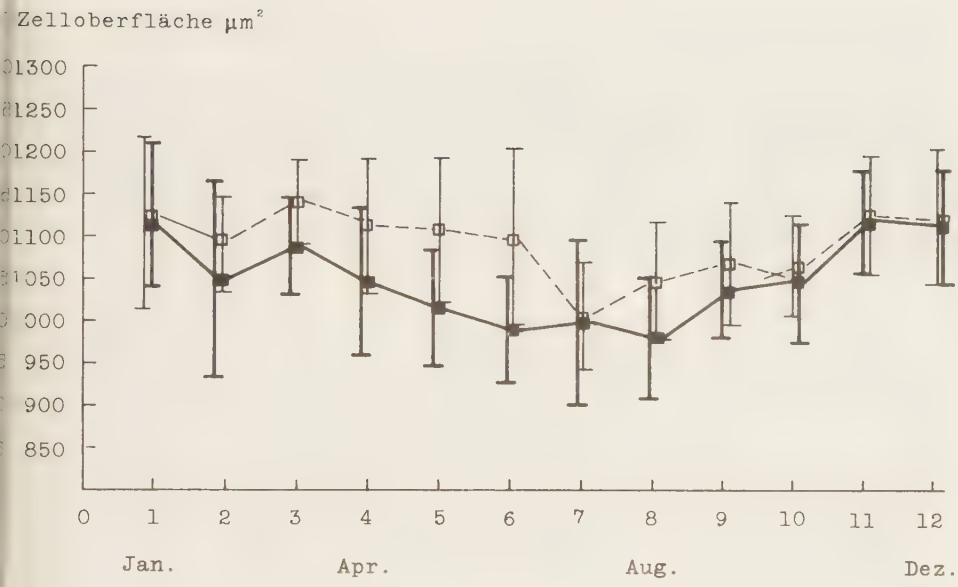


Abb. 3. Vergleich der Körperregionen junger Frauen.

□ Paraumbilikalregion ■ Unterschenkel

Mittelwerte ± Standardabweichungen

Altersgruppen

Jüngere Frauen haben am Unterschenkel wesentlich kleinere Hornzellen als ältere Frauen. Am Nabel war eine deutliche Größendifferenz nur im Herbst und Winter zu erkennen. Im Frühjahr und Sommer nahm die Zellfläche bei den älteren Frauen deutlich ab, so daß sich die Werte der beiden Gruppen kaum mehr unterschieden. Ein Beispiel dafür sind die Werte vom April 1981.

	Junge Frauen μm^2	Alte Frauen μm^2
April 1981		
Nabel	1116 ± 82	1069 ± 83
Dezember 1981		
Nabel	1115 ± 69	1289 ± 111
Bein	1129 ± 82	1223 ± 110

Tabelle 4. Vergleich der Zellfläche in μm^2 von jungen und älteren Frauen.

Die jungen Männer hatten im Vergleich zu den älteren Männern kleinere Korneozyten sowohl am Unterschenkel als auch am Nabel. Zu einer Angleichung der Befunde kam es vor allem bei den paraumbilikal gemessenen Werten im Frühjahr und Winter.

	Junge Männer μm^2	Alte Männer μm^2
Juli 1981		
Nabel	1109 ± 72	1286 ± 116
Bein	1049 ± 91	1364 ± 169
April 1981		
Nabel	1110 ± 94	1197 ± 76
Bein	1023 ± 114	1197 ± 101

Tabelle 5. Vergleich der Zellfläche in μm^2 von jungen und älteren Männern.

Geschlecht

Es wurde die Gruppe der jungen Frauen und Männer sowie die Gruppe der älteren Frauen und Männer jeweils miteinander verglichen.
Die Gegenüberstellung der jungen Personen führte nicht zum Nachweis eines geschlechtsspezifischen Unterschiedes (Abb.5), was bei den älteren Probanden allerdings möglich war (Abb.4). Die älteren Männer hatten das ganze Jahr über größere Hornzellen als die älteren Frauen.

Juli 1981	Alte Frauen μm^2	Alte Männer μm^2
Bein	1051 ± 121	1364 ± 169
Nabel	1054 ± 131	1286 ± 116

Tabelle 6. Vergleich der Zellfläche in μm^2 von alten Frauen und Männern.

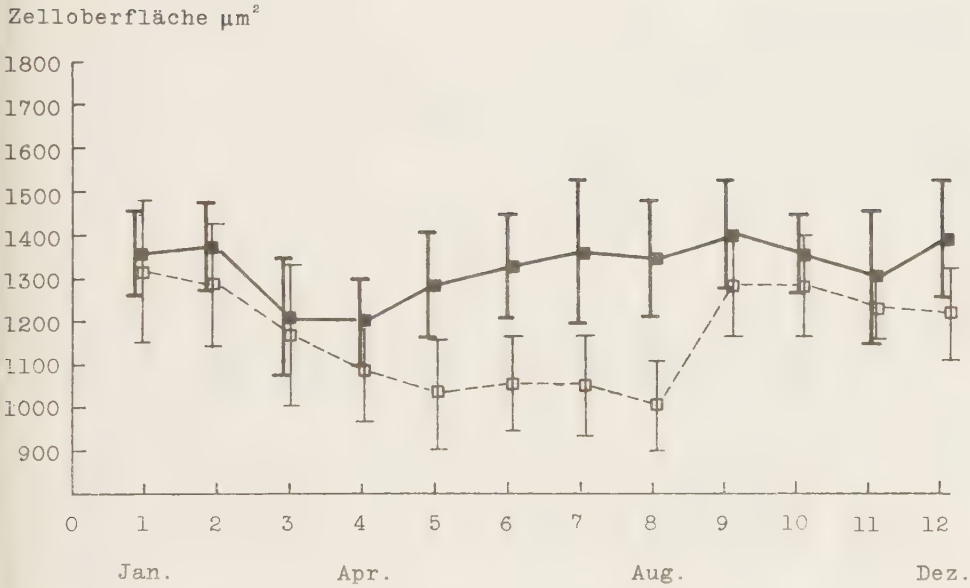


Abb. 4. Vergleich der Geschlechter. Region: Unterschenkel

□ alte Frauen ■ alte Männer

Mittelwerte ± Standardabweichungen

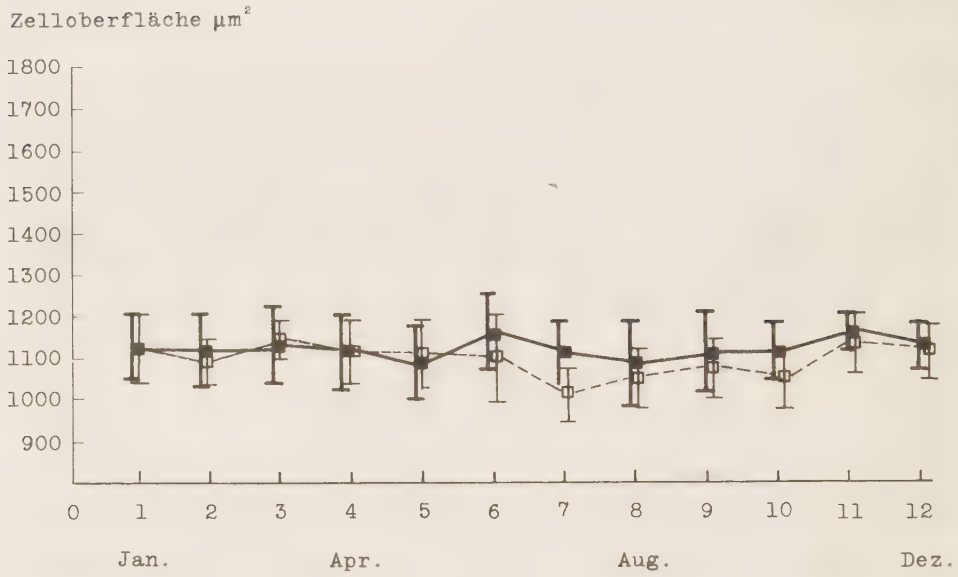


Abb. 5. Vergleich der Geschlechter. Region: paraumbilikal

□ junge Frauen ■ junge Männer

Mittelwerte ± Standardabweichungen

Jahreszeitlicher Verlauf

Die Ergebnisse der jungen Frauen und Männer wiesen über das Jahr gesehen nur geringe Schwankungen auf, die wahrscheinlich nicht auf eine Beziehung zwischen Korneozytengröße und jahreszeitlichem Verlauf zurückzuführen sind (Abb.6,7). Bei den älteren Frauen zeichnete sich im Frühjahr und Sommer deutlich ein Kleinerwerden der Zellflächenwerte ab. So nahm die Größe der Korneozyten am Nabel von 1250 ± 163 im März auf 1069 ± 83 im April ab und stieg erst im September auf 1326 ± 155 μm^2 wieder an. Der Verkleinerung der Zellfläche im Frühjahr und Sommer bei den älteren Frauen stand eine Größenzunahme bei den älteren Männern im Sommer und Winter gegenüber (September 1981 Bein 1401 ± 126, Nabel 1313 ± 67 μm^2). Die kleinsten Korneozytenflächen wurden in den Monaten März (Bein 1211 ± 136) und April (Bein 1197 ± 101 μm^2) gemessen. Den saisonalen Schwankungen folgend war bei dieser Gruppe die Fläche der Korneozyten des Unterschenkels größer als die der Nabelgegend. Diese Beobachtung trifft für die anderen drei Gruppen nicht zu, da hier die in der Paraumbilikalregion gemessenen Werte über denen des Unterschenkels lagen.

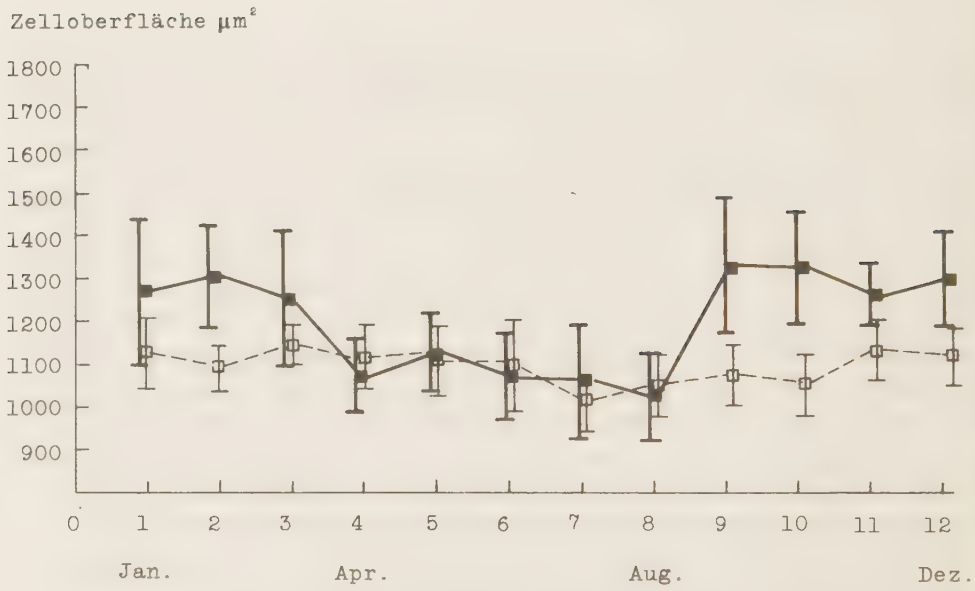


Abb. 6. Jahreszeitlicher Verlauf. Region: paraumbilikal

■ alte Frauen □ junge Frauen

Mittelwerte ± Standardabweichungen

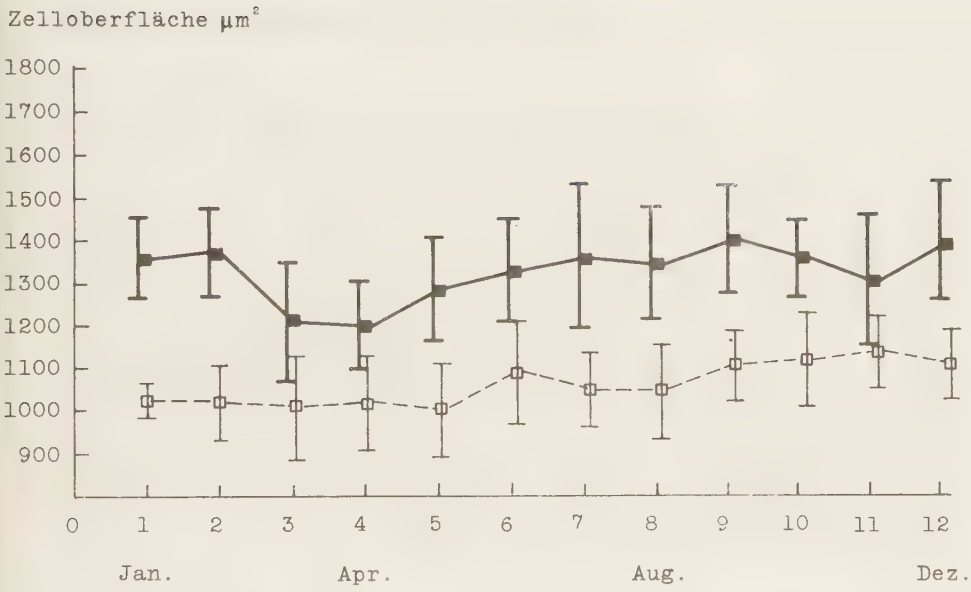


Abb. 7. Jahreszeitlicher Verlauf. Region: Unterschenkel

■ alte Männer □ junge Männer

Mittelwerte ± Standardabweichungen

Änderung der Zellzahl pro Quadratzentimeter Hautoberfläche im Laufe eines Jahres

Die Zellzahlen pro Quadratzentimeter bei jungen Frauen schwankten das Jahr über sowohl am Nabel als auch am Bein nicht sehr stark. Eine Ausnahme bildete lediglich der Monat Dezember mit 130.000 Zellen/cm^2. Sonst lagen die Werte zwischen 40.000 - 60.000/cm^2. Bei den älteren Frauen stieg die Zellzahl im Sommer an, und erreichte ihren Gipfel im Monat Juli mit 133.000 Zellen/cm^2 am Bein (Abb.8). Bei den jungen Männern zeigte sich eine ähnliche Tendenz wie bei den jungen Frauen mit einer relativ konstanten Zellzahl von 40.000 - 60.000/cm^2 während des Jahres und einem Anstieg dieser Zahl auf 100.000/cm^2 am Nabel beziehungsweise 120.600/cm^2 am Bein zum Jahresende. Die älteren Männer hatten ebenso wie die älteren Frauen einen Sommergipfel, das heißt auch bei ihnen stiegen die Werte im Sommer an auf beispielsweise 193.400/cm^2 am Nabel im Monat Juli (Abb.9).

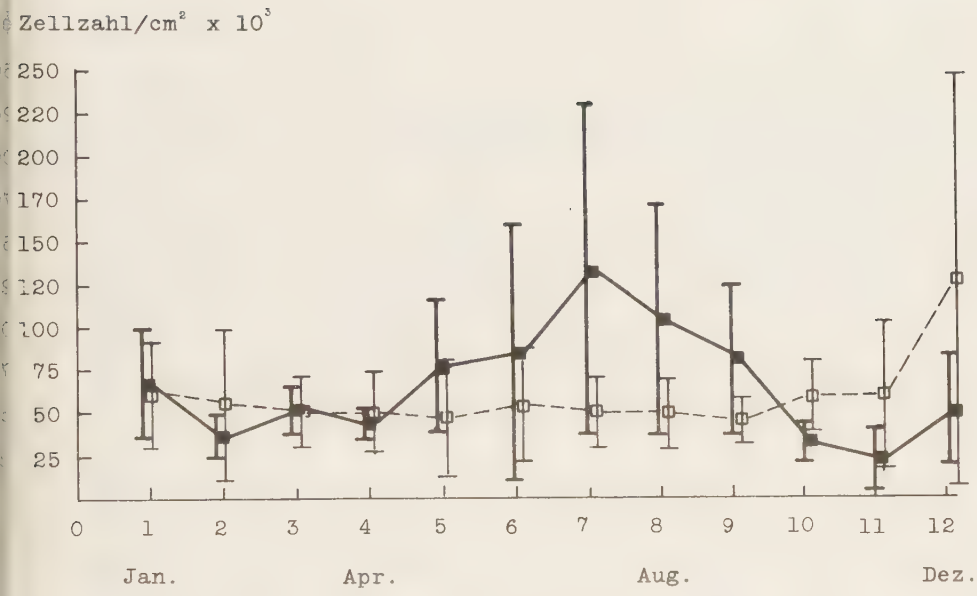


Abb. 8. Änderung der Zellzahl/cm². Region: Unterschenkel

■ alte Frauen □ junge Frauen

Mittelwerte ± Standardabweichungen

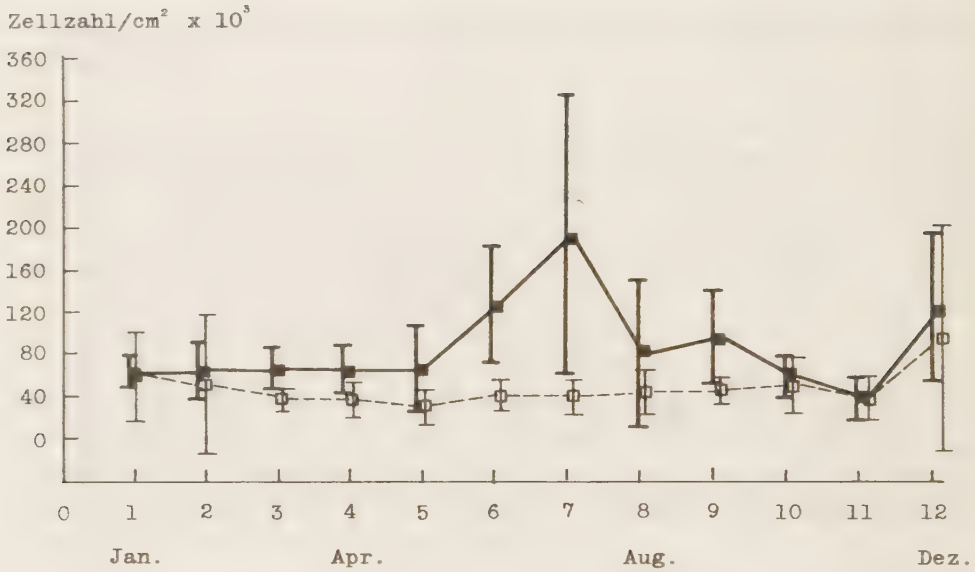


Abb. 9. Änderung der Zellzahl/cm². Region: paraumbilikal

■ alte Männer □ junge Männer

Mittelwerte ± Standardabweichungen

Varianzanalyse

Die Lokalisation (Nabel oder Unterschenkel) hat den geringsten, die Zeit den größten Einfluß auf die Zelloberfläche. Das Geschlecht ($p < 0,01$) hat ebenfalls Auswirkungen auf die Zellfläche der Korneozyten.
Die Analyse der Zellzahlen ergab, daß die Lokalisation und das Alter ($p < 0,08$) keinen statistisch nachweisbaren Einfluß ausübt. Das Geschlecht wirkt sich eher gering auf die Zellzahlen aus, wohingegen die Zeit ($p < 0,01$) einen großen Einfluß hat.

Zelloberfläche Unterschenkel

Alter	Geschlecht	Jan	Febr	März	April	Mai	Juni	Juli	Aug	Sept	Okt	Nov	Dez
jung	männlich 1-10	1045	1029	1013	1048	997	1044	1041	1048	1106	1091	1135	1122
	weiblich 1-10	1112	1049	1094	1039	995	990	983	968	1026	1048	1126	1119
alt	männlich 1-10	1390	1357	1183	1219	1306	1315	1433	1388	1428	1350	1309	1396
	weiblich	1295	1269	1164	1096	1074	1026	1037	998	1269	1239	1239	1207

Zelloberfläche Nabel

Alter	Geschlecht	Jan	Febr	März	April	Mai	Juni	Juli	Aug	Sept	Okt	Nov	Dez
jung	männlich 1-10	1116	1123	1173	1132	1092	1141	1079	1027	1103	1135	1151	1157
	weiblich 1-10	1133	1086	1150	1118	1088	1087	993	1034	1063	1031	1110	1114
alt	männlich 1-10	1408	1317	1184	1187	1341	1364	1296	1332	1334	1250	1250	1317
	weiblich 1-10	1253	1301	1269	1079	1131	1060	1042	1031	1297	1312	1246	1292

Tab. 7. Die Tabelle zeigt einen Teil der Varianzanalyse
2 unabhängige Variable: Alter und Geschlecht
2 abhängige Variable: Zeit und Lokalisation

Variabilität der Standardabweichung

Die Standardabweichungen wurden ebenso wie die Mittelwerte für alle Daten errechnet.
Dabei zeigte sich, daß die Gruppe der älteren Probanden nicht nur größere Zellflächen sondern auch höhere Standardabweichungen aufwies. Diese Tatsache wurde in Abbildung 10 graphisch dargestellt. Verglichen sind dabei die Standardabweichungen der jungen mit denen der älteren Frauen.

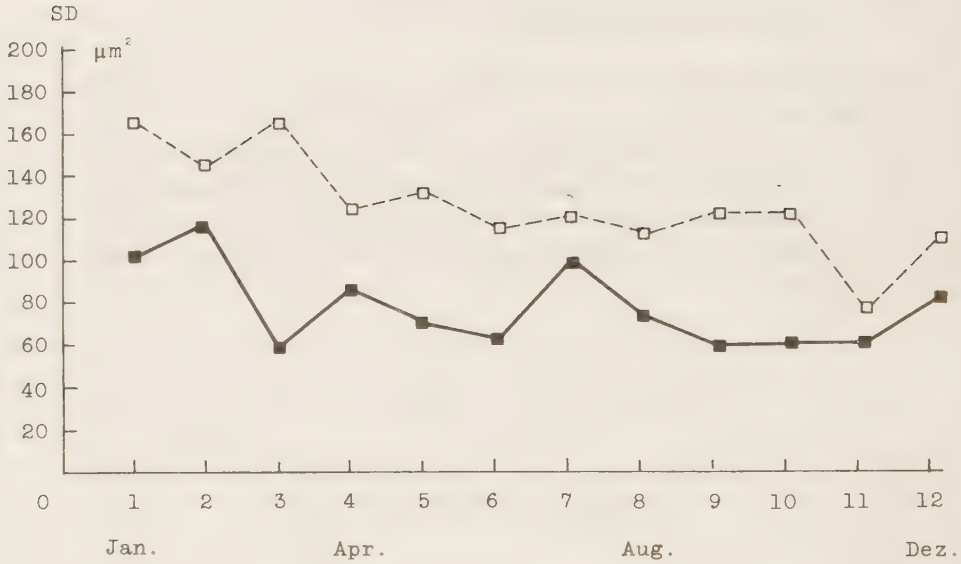


Abb. 10. Variabilität der Standardabweichung

□ Standardabweichungen alter Frauen

■ Standardabweichungen junger Frauen

Beziehung zwischen Zellzahl und Zellgröße

Am Beispiel der Gruppe der älteren Frauen konnte ein Zusammenhang zwischen Zellzahl und Zellgröße demonstriert werden. Wie in der Abbildung 11 dargestellt, verhalten sich Zellzahl und Zellgröße umgekehrt proportional, das heißt die Zellzahl ist in den Monaten am niedrigsten in denen die Zellfläche ihre höchsten Werte erreicht.

	Zellzahl/cm^2	Zellfläche μm^2
Juli 1981	133.200	1051
Oktober 1981	32.300	1284

Tabelle 8. Beziehung zwischen Zellzahl und Zellgröße bei weiblichen Probanden im Alter von 85 ± 6 Jahren.

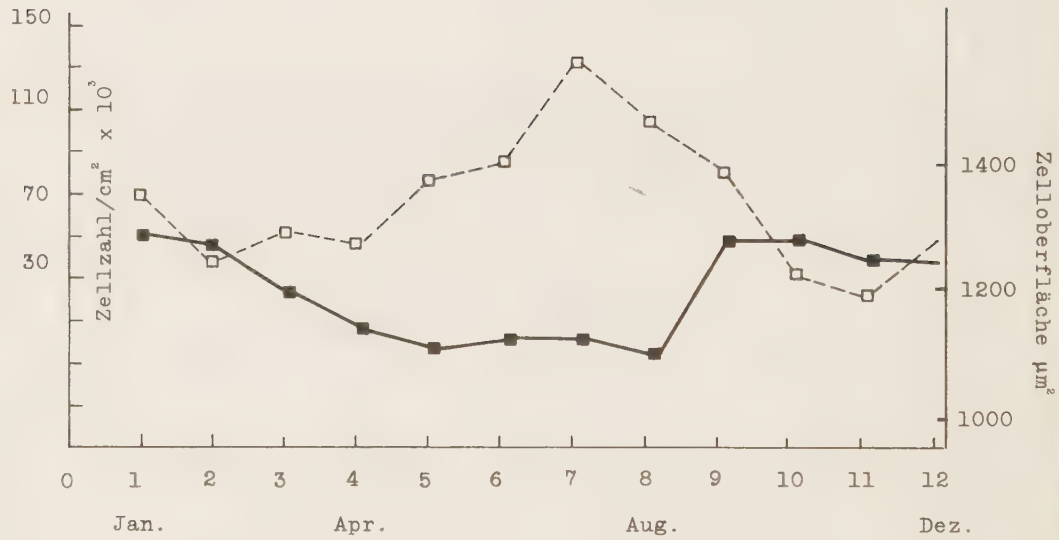


Abb. 11. Beziehung zwischen Zellzahl und Zellgröße.
Region: paraumbilikal

□ Zellzahl/cm² x10³ alter Frauen

■ Zelloberfläche µm² alter Frauen

Diskussion

Die Untersuchungen über regionale Unterschiede von Hornzellen ergaben, daß bei jungen Menschen die Korneozyten des Unterschenkels kleiner sind als die des Nabels. Zu ähnlichen Aussagen kamen Plewig und Marples (30) 1970, aber auch Marks, Nicholls und King (27) 1981, deren Befunde über die Paraumbilikalregion bezüglich Zellzahl mit den der hier vorgelegten Daten übereinstimmen. Im zweiten Teil der 1970 entstandenen Arbeit von Plewig (31) wird dokumentiert, daß im Alter die Hornzellen aller Regionen größer sind als die bei jungen Leuten.

Mit der jetzt vorgelegten, umfangreichen Studie konnte die Größenzunahme der Zellen alter Menschen eindeutig bestätigt werden. Außer Plewig (31) beschrieben auch Marks et al (24,25,27) sowie Baker und Blair (1) größere Korneozytenflächen älterer im Vergleich zu jüngeren Menschen. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen gaben Baker und Blair (1) sowie Grove et al (15). Sie bestimmten die Transitzeit (Durchwanderungszeit vom Stratum granulosum bis zur Hautoberfläche) der Korneozyten und stellten dabei fest, daß bei älteren Menschen diese Zeit länger ist als in jüngeren Altersgruppen. Daraus schlossen sie, daß durch die Verlängerung der Zeit (lange Transitzeit) eine Zunahme der Zellgröße möglich wird. Grove et al (15) führten die prolongierte Transitzeit auf eine abnehmende proliferative Zellaktivität im Alter zurück. Ein Geschlechtsunterschied, wie er von Plewig (31) ursprünglich angedeutet wurde, konnte bei dieser Studie für die Gruppe der jungen Probanden nicht nachgewiesen werden. Grove et al (15), sowie Marks et al (27) kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, daß die Größe der Hornzellen nicht vom Geschlecht abhängig ist. Bei der Gruppe älterer Personen zeichnete sich in der jetzigen Untersuchung allerdings ein Geschlechtsunterschied ab, da die Zellen älterer Männer größer sind als die älterer Frauen (Tabelle 6, Abbildung 4).

Bei den jungen Versuchspersonen konnten keine signifikanten jahreszeitlichen Schwankungen festgestellt werden. Dies stand in deutlichem Gegensatz zu den älteren Probanden, die saisonale Differenzen aufwiesen. Bei den älteren Frauen war eine Abnahme der Zellfläche im Sommer zu ermitteln. Diese Größenabnahme könnte ihre Ursache in einer gesteigerten Epidermopoese in dieser Jahreszeit haben. Hölzle und Plewig (18) wiesen nach, daß bei gesteigerter Epidermopoese, beispielsweise bei allergischer Kontaktdermatitis, die Korneozyten kleiner werden. Die These der vermehrten Epidermopoese im Sommer würde auch die hohen Zellzahlen/cm^2 der alten Menschen in dieser Jahreszeit erklären (14).

Neben der Änderung von Zellzahl und Zellgröße älterer Menschen ist auch eine größere Standardabweichung ihrer Werte auffällig. Diese ist auf die unregelmäßige Form und die stärker differierenden Einzelwerte der Hornzellen zurückzuführen (13,31). Als Erklärung für die größeren Schwankungen bei den Korneozyten alter Menschen wäre die Beobachtung zu nennen, daß sich im Alter verschiedene biologische Parameter verändern und insbesondere deren Streubreite zunimmt, wie beispielsweise Blutdruck, Blutfettwerte und Augeninnendruck.
Die exfoliative Zytologie des Stratum corneum erweist sich als geeignete Methode zur Untersuchung von Korneozyten, da es hiermit möglich ist, biologische Effekte der normalen Haut zu registrieren.

Lebenslauf

Am 14. September 1957 wurde ich in München geboren. Nach vierjähriger Volksschulzeit besuchte ich das sozialwissenschaftliche Bertolt-Brecht-Gymnasium und legte 1977 die Reifeprüfung ab.

Im Herbst des Jahres 1977 nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig Maximilians-Universität in München auf und legte im Frühjahr 1981, 1983 und 1984 den ersten, zweiten und dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ab.

Mit der vorliegenden Dissertation war ich, mit Unterbrechungen durch Studium und Examina, vom Frühjahr 1981 bis Herbst 1985 beschäftigt.

Herrn Professor Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco, Direktor der Dermatologischen Universitäts- und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich, daß er mir die Möglichkeit gab, meine Arbeit an seiner Klinik anzufertigen.
Ganz besonders möchte ich Herrn Professor Dr. G. Plewig, jetzt Direktor der Universitätshautklinik Düsseldorf danken, daß er während seiner Zeit als Oberarzt an der Münchener Hautklinik durch seinen stets freundlichen Rat wesentlich zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Mein Dank gilt auch dem Direktor des Instituts für Medizinische Informationsverarbeitung, Statistik und Biomathematik der Universität München Herrn Professor Dr. K. Überla, sowie seinem Mitarbeiter Herrn Dr. Haßford, die mich auf diesem Gebiet sehr hilfreich unterstützten. Nicht zuletzt möchte ich mich bei Frau Scheuber MTA und Frau Ruhfus MTA, bedanken, die mich insbesondere während des experimentellen Teils der Arbeit stets freundlich berieten.

Literaturverzeichnis

1. Baker H, Blair CP (1968): Cell replacement in the human stratum corneum in old age. Br J Dermatol 80:367-372

2. Baker H, Kligman AM (1967): Technique for estimating turnover time of human stratum corneum. Arch Dermatol 95:408:411

3. Blair C (1968): Morphology and thickness of the human stratum corneum. Br J Dermatol 80:430-436

4. Christophers E (1972): Correlation between column formation, thickness and rate of new cell production in guinea pig ear. Virchows Archiv (Cell Pathol) 10:286-292

5. Christophers E (1971): Cellular architecture of stratum corneum. J Invest Dermatol 56:165-169

6. Christophers E (1970): Eine neue Methode zur Darstellung des Stratum corneum. Arch Klin Exp Dermatol 237:717-721

7. Christophers E, Kligman AM (1964): Visualization of the cell layers of the stratum corneum. J Invest Dermatol 42:407-410

8. Christophers E, Wolff HH, Laurence EB (1974): The formation of epidermal cell columns. Br J Dermatol 62:555-559

9. Epstein WL, Maibach HI (1965): Cell renewal in human epidermis. Arch Dermatol 92:462:468

10. Germann H, Barran W, Plewig (1980): Morphology of corneocytes form human nail plates. J Invest Dermatol 74:115-118

11. McGinley KJ, Marples RR, Plewig G (1969): A method for visualizing and quantitating the desquamating portion of the human stratum corneum. J Invest Dermatol 53:107-111

12. Goldschmidt H, Kligman AM (1967): Exfoliative cytology of the human horny layer. Arch Dermatol 96:572-576

13. Grove GL, Kligman AM (1983): Corneocyte size as an indirect measure of epidermal proliferative activity. In: Marks R, Plewig G (eds) Stratum corneum: Struktur und Funktion. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 191-195

14. Grove GL, Lavker RM, Hölzle E, Kligman AM (1980): Use of non-intrusive test to monitor age-associated changes in human skin. J Soc Cosmet Chem 32:15-26

15. Hallmann L (1966): Klinische Chemie und Mikroskopie Thieme Verlag, pp 275-276

16. Herrmann S, Scheuber E, Plewig G (1983): Exfoliative cytology: Effects of the seasons. In: Marks R, Plewig G (eds) Stratum corneum: Struktur und Funktion. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 181-185

17. Hölzle E, Plewig G (1977): Effects of dermatitis, stripping, and steroids on the morphology of corneocytes. A new bioassay. J Invest Dermatol 68:350-356

18. Holbrook KA, Odland GF (1974): Regional differences in the thickness (cell layers) of the human stratum corneum: an ultrastructural analysis. J Invest Dermatol 62:415-422

19. Horstmann E, Knoop (1958): Dermatologie und Venerologie Bdl/1:47-54, Thieme Verlag Stuttgart Cottron HA, Schönfeld W

20. Jansen LH, Hojyo-Tomoko MT, Kligman AM (1974): Improved fluorescence staining technique for estimating turnover of the human stratum corneum. Br J Dermatol 90:9-11

21. Mackenzie IC (1983): The cellular architecture of the stratum corneum. In: Marks R, Plewig G (eds) Stratum corneum: Struktur und Funktion. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 146-152

22. Mackenzie IC, Linder JE (1973): An examination of cellular organization within the stratum corneum by a silver staining method. J Invest Dermatol 61:245-250

23. Marks R (1981): Measurements of biological ageing in the human epidermis. Br J Dermatol 104:627-633

24. Marks R, Barton SP (1983): The significance of the size and shape of corneocytes. In: Marks R, Plewig G (eds) Stratum corneum: Struktur und Funktion. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 161-170

25. Marks R, Lawson A, Nicholls S (1983): Age-related changes in stratum corneum, structure and function. In: Marks R, Plewig G (eds) Stratum corneum: Struktur und Funktion. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 175-180

26. Marks R, Nicholls S, King CS (1981): Studies on isolated corneocytes. Internat J Cosmet Sci 3:251-258

27. Menton DN, Eisen AZ (1971): Structural organization of the stratum corneum in certain scaling disorders of the skin. J Invest Dermatol 57:295-307

28. Orfanos CE (1972): Feinstrukturelle Morphologie und Histopathologie der vorhornenden Epidermis. Thieme Verlag

29. Plewig G, Marples RR (1970): Regional differences of cell sizes in the human stratum corneum. Part I. J Invest Dermatol 54:13-18

30. Plewig G (1970): Regional differences of cell sizes in the human stratum corneum. Part II. Effects of sex and age. J Invest Dermatol 54:19-23

31. Roberts D, Marks R (1980): The determination of regional and age variations in the rate of desquamation: a comparison of 4 techniques. J Invest Dermatol 74:13-16

32. Scheuplein RJ (1976): Permeability of the skin: A review of major concepts and some new developments. J Invest Dermatol 67:672-676

33. Shusters S, Black MM (1975): The influence of age and sex on skin thickness, skin collagen and density. Br J Dermatol 93:639-643

34. Stüttgen G, Schaefer H (1974): Funktionelle Dermatologie Springer Verlag Berlin: pp 8-23

35. Whitton JT, Everall JD (1973): The thickness of the epidermis. Br J Dermatol 89:467-476

36. Williamson P, Kligman AM (1965): A new method for quantitative investigation of cutaneous bacteria. J Invest Dermatol 45:498-503

37. Wolf J (1939): Die innere Struktur der Zellen des Stratum desquamans der menschlichen Epidermis. Z Mikr Anat Forsch 46:170-202